

Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Siti Hajar Puaq Tudeq¹, Nur Alim², Muhammad Iqbal³

¹Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar, Makassar.Indonesia

Siti Hajar Puaq Tudeq
Andinurzamzam.dty@uim-makassar.ac.id

ABSTRAK

Biji alpukat (*Persea Americana* Mill.) merupakan salah satu bagian tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dan membandingkan nilai IC₅₀ ekstrak biji alpukat berdasarkan perbedaan metode ekstraksi. Metode penelitian meliputi ekstraksi secara maserasi dan refluks menggunakan pelarut etanol 70% dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat secara maserasi dan refluks di peroleh nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 38.857 ± 0.1937 µg/mL dan 35.946 ± 0.1225 µg/mL. Kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji alpukat secara maserasi dan refluks 0.0570 dan 0.0617 kali asam askorbat dengan nilai IC₅₀ sebesar 2.219 ± 0.0028 µg/mL

Kata Kunci: Antioksidan; Maserasi; Refluks; Biji Alpukat; DPPH

ABSTRACT

Avocado seeds (*Persea Americana* Mill.) are one part of the plant that can be used as a source of antioxidants. This study aims to determine and compare the IC₅₀ value of avocado seed extract based on different extraction methods. The research method includes extraction by maceration and reflux using 70% ethanol solvent and antioxidant activity testing using the DPPH method using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 505 nm. The results of the antioxidant activity test of avocado seed extract by maceration and reflux obtained IC₅₀ values of 38.857 ± 0.1937 µg/mL and 35.946 ± 0.1225 µg/mL, respectively. The antioxidant activity of avocado seed ethanol extract by maceration and reflux is 0.0570 and 0.0617 times that of ascorbic acid with an IC₅₀ value of 2.219 ± 0.0028 µg/mL

Keywords: Antioxidant; Maceration; Reflux; Avocado Seeds; DPPH

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron yang mampu mengatasi dampak negatif oksidan dalam tubuh seperti kerusakan sel tubuh. Antioksidan juga merupakan suatu senyawa yang memperlambat atau mencegah proses oksidasi dengan cara menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas (Erlidawati dan Safrida, 2018).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbit terluarnya. Molekul tersebut diantaranya atom hidrogen, logam-logam transisi dan molekul oksigen. Kehadiran satu atau lebih elektron tidak berpasangan menyebabkan molekul ini mudah tertarik pada suatu medan magnet dan menyebabkan molekul sangat reaktif, sehingga menimbulkan reaksi berantai yang menyebabkan kerusakan sel terus menerus (Khaira, 2010; Yuslianti, 2018).

Salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan adalah alpukat (*Persea americana* Mill.). Biji alpukat berdasarkan penelitian mengandung senyawa flavonoid, fenolik, tanin, vitamin C dan vitamin E, yang memiliki potensi sebagai antioksidan (Feliana dkk, 2018; Kingne, 2018 Rifai dkk, 2018). Penelitian oleh Mustopa. (2019) mengungkapkan bahwa ekstrak biji alpukat asal Lembang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ 44,58 ppm yang berkorelasi dengan kandungan

senyawa flavonoid yang terkandung dalam biji alpukat. Penelitian lain oleh Alim dkk. (2022) membuktikan bahwa ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang di ekstraksi secara maserasi memiliki nilai IC_{50} $37,7475 \pm 0,0441$ ppm, dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat.

Penelitian Susanty dan Bachmid. (2016) membuktikan bahwa perbedaan metode ekstraksi maserasi dan refluks memiliki hubungan terhadap perbedaan kadar fenolik. Penelitian lain oleh kiswandono. (2017) mengungkapkan bahwa perbedaan metode ekstraksi memiliki pengaruh terhadap kandungan senyawa kimia dan rendemen ekstrak.

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu apakah perbedaan metode ekstraksi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.)

METODE PELAKSANAAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2024 di Laboratorium Farmakognosi – Fitokimia dan Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Islam Makassar.

Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, ayakan mesh 40, bejana maserasi, cawan porselin, erlenmeyer, gelas kimia, labu alas bulat, labu tentukur, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis dan timbangan analisis.

Bahan-bahan yang digunakan adalah aluminium foil, aquadest, asam askorbat, biji alpukat (*Persea americana* Mill.) *Diphenyl picrylhydrazyl* (DPPH), etanol 70%, methanol p.a.

Pengambilan Sampel

Sampel uji adalah biji alpukat (*Persea americana* Mill.) diperoleh dari buah yang matang di Desa Lusitada, Kecamatan Nita, Kabupaten Sikka, Nusa Tenggara Timur.

Pengolahan Sampel

Biji alpukat dipisahkan dari daging buahnya, dibersihkan dengan air mengalir dan ditiriskan, dipotong-potong kecil, di keringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung, kemudian diserbukkan dan diayak menggunakan mesh 40. Serbuk simplisia di timbang kemudian di lakukan ekstraksi secara maserasi dan refluks menggunakan etanol 70%.

Prosedur Kerja

1. Ekstraksi

Maserasi

Serbuk simplisia biji alpukat ditimbang sebanyak 250 g, dimasukkan dalam bejana maserasi kemudian dibasahi terlebih dahulu dengan cairan penyari etanol 70%, didiamkan beberapa menit hingga terbasahi semua

kemudian ditambahkan etanol 70% hingga terendam sempurna, dibiarkan selama 2 x 24 jam dalam bejana tertutup dan terlindung dari sinar matahari dengan sesekali diaduk. Total etanol 70% yang di gunakan sebanyak 1000 mL. Selanjutnya disaring untuk memisahkan ekstrak cair dan ampas, ampas selanjutnya diremaserasi dengan pelarut yang sama sebanyak 2 kali. Ekstrak cair kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental lalu ditimbang untuk menghitung rendamennya .

Refluks

Serbuk biji alpukat ditimbang sebanyak 250 g, dimasukkan ke dalam labu bulat, ditambahkan etanol 70% dan direfluks selama 2 jam. Ekstrak yang di hasilkan di saring, kemudian ampasnya direfluks kembali menggunakan pelarut yang sama selama. Total etanol 70% yang di gunakan sebanyak 1000 mL. Filtrat yang dihasilkan lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental dan di hitung rendamennya.

2. Uji aktivitas antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0.0157 g, dimasukkan ke dalam labu tentukur, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a, dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas.

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0.4 mM dipipet sebanyak 1 mL di masukkan ke dalam labu tentukur 5 mL kemudian dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas, lalu di kocok sampai homogen. Labu tentukur dibungkus dengan aluminium foil dan didiamkan selama 30 menit, diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum antara 400 – 600 nm. Panjang gelombang maksimum di tentukan berdasarkan absorbansi tertinggi.

Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana Mill.*)

Ekstrak etanol biji alpukat ditimbang sebanyak 5 mg, dilarutkan dengan metanol p.a dalam gelas kimia, lalu dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Aplukat (*Persea americana Mill.*) dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas ekstrak biji alpukat sebagai antioksidan dilakukan dengan memipet larutan stok 500 ppm masing-masing 0,05 mL; 0,1 mL; 0,2 mL; 0,4 mL dan 0,8 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL yang dibungkus aluminium foil dan ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm. Campuran dihomogenkan kemudian ditutup dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm.

Pembuatan Larutan Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Asam Askorbat 500 ppm

Larutan asam askorbat 500 ppm dibuat dengan cara menimbang sebanyak 5 mg asam askorbat dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu tentukur 10 ml sambil dihomogenkan, dicukupkan volumenya hingga tanda batas

Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Asam Askorbat 500 ppm

Pengujian aktivitas antioksidan larutan asam askorbat dilakukan dengan memipet larutan stok 500 ppm masing-masing 0,0025 mL, 0,005 mL, 0,01 mL, 0,02 mL, dan 0,04 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 ml lalu ditambahkan 1 mL DPPH 0.4 mM, dicukupkan volumenya hingga tanda batas, sehingga diperoleh seri konsentrasi 0,25 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, dan 4 ppm. Dibungkus dengan aluminium foil dan didiamkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm.

Analisis Data

Presentase inhibisi ditentukan dengan menggunakan analisis dengan membuat kurva hubungan antara persen hambatan dengan konsentrasi. Data aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas DPPH dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{(\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

Keterangan :

Ab = Serapan larutan DPPH dalam metanol

As = Serapan larutan DPPH setelah bereaksi dengan sampel

Nilai IC₅₀ dihitung pada saat nilai % peredaman sebesar 50% dengan menggunakan persamaan:

$$y = ax + b$$

Sehingga:

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - b)}{a}$$

Keterangan:

y = Absorbansi sampel (50)

a = Titik potong kurva pada sumbu y (Intercep)

b = kemiringan kurva (Slope)

x = Konsentrasi sampel (IC₅₀)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Rata-rata Nilai IC₅₀ Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Secara Maserasi

Simplo	Duplo	Triplo	Nilai Rata-rata ± SD (µg/mL)
38.687	38.816	39.068	38.857 ± 0.1937

Tabel 2. Rata-rata Nilai IC₅₀ Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Secara Refluks

Simplo	Duplo	Triplo	Nilai Rata-rata ± SD (µg/mL)
35.817	36.061	35.959	35.946 ± 0.1225

Tabel 3. Rata-rata Nilai IC₅₀ Hasil Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

Simplo	Duplo	Triplo	Nilai Rata-rata ± SD (µg/mL)
2.216	2.221	2.216	2.218 ± 0.0028

Penelitian ini menggunakan sampel biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang diperoleh dari Desa Lusitada Kabupaten Sikka, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan nilai IC₅₀ ekstrak biji alpukat berdasarkan perbedaan metode ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dan refluks.

Metode ekstraksi secara maserasi biasanya digunakan untuk simplisia dengan tekstur tidak keras yang didalam proses ekstraksinya dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Keuntungan cara ini mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai (Istiqomah, 2013).

Metode ekstraksi secara refluks umumnya digunakan untuk sampel dengan tekstur keras dimana ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dan adanya pendingin balik. Ekstraksi dapat berlangsung dengan efisien dan senyawa dalam sampel secara lebih efektif dapat ditarik oleh pelarut (Istiqomah, 2013).

Dari data diatas didapatkan uji aktivitas antioksidan hasil ekstraksi maserasi dan refluks masing-masing dengan nilai IC₅₀ sebesar 38.857 µg/mL dan 35.946 µg/mL dan pembanding asam askorbat sebesar 2.218. Perbedaan hasil uji aktivitas antioksidan yang diperoleh dari kedua ekstraksi tidak berbeda jauh. Hal ini disebabkan karena tekstur biji alpukat memiliki tekstur yang tidak keras seperti tekstur biji (semen) pada umumnya dan juga masing-masing metode juga memiliki kelebihan. Metode maserasi memerlukan waktu yang lebih lama untuk mengekstrak zat aktif dalam sampel, sedangkan metode refluks karena dengan adanya pemanasan maka cairan penyari dapat dengan mudah menembus dinding sel simplisia serta proses ekstraksi dapat

berlangsung secara singkat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa perbedaan ekstraksi secara maserasi maupun refluks ekstrak etanol biji alpukat memiliki aktivitas antioksidan yang tidak jauh berbeda, masing-masing dengan nilai IC₅₀ sebesar $38.857 \pm 0.1937 \mu\text{g/mL}$ dan $35.946 \pm 0.1225 \mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis haturkan kepada Bapak Dr. apt. Nur Alim, S.Si., M.Si., dan Bapak apt. Muhammad Iqbal, S.Si., M.Si., selaku pembimbing yang telah memberi motivasi, meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis mulai saat perencanaan penelitian sampai selesainya jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alim, N., Hasan, T., Rusman, & Jasmiadi. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill) Asal Enrekang Sulawesi Selatan dengan Metode DPPH. *Prosiding Seminar Nasional SAINS Dan Terapan (SINTA)*, VI(April), 166-175.
- Erlidawati., Safrida. 2018. *Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes: Buku untuk mahasiswa*. Syiah Kuala University Press: Aceh.
- Feliana, K., Mursiti, S., & Harjono, H. 2018. Isolasi dan Elusidasi Senyawa Flavonoid dari Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(2), 153–159. <https://doi.org/10.15294/ijcs.v7i2.20997>
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti* fructus.). *Skripsi UIN Jakarta*.
- Khaira, K. 2010. Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan Program Studi Tadris Matematika STAIN Batusangkar J Sudirman, Kaburajo Lima Kaum Batusangkar, Sumatera Barat: 27213.
- Kingne, F K., Tsafck HD Bounjo GT Mboukap A Azia A. 2018. Phenolic Content and Antioxidant Activity og Young and Mature Mango (*Mangifera indica*) and Avicado (*Persea americana* Mill.) Leave Ekstracts *Journal of Food Stability*, 1 14-27.

- Kiswandono, A. A. (2017). Skrining Senyawa Kimia Dan Pengaruh Metode Maserasi Dan Refluks Pada Biji Kelor (*Moringa Oleifera*, Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak Yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural*, 1(2), 126 <https://doi.org/10.31938/jsn.v1i2.21>
- Mustopa, L.H. 2019. Uji Potensi Antioksidan Pengembangan Formulasi Krim Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) *Jurnal* Institusi Poltekes Kemenkes Bandung: Indonesia 10560.
- Rifai, G., Rai Widarta, I. W., & Ayu Nocianitri, K. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Dan Rasio Bahan Dengan Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(2), 22. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i02.p03>
- Susanty, S., & Bachmid, F. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87. <https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92>
- Yuslianti, R. E. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Penerbit Deepublish Grup Dicitak oleh CV Budi Utama (anggota IKAPI):. Yogyakarta.